# TOXICIDAD CRONICA DEL DISPERSANTE COREXIT 9527 EN EL CAMARON (Artemesia longinaris) (CRUSTACEA, DECAPODA: PENAEIDAE).

Néstor M. Lucero<sup>1,3</sup>, Marcelo A. Scelzo<sup>2,3</sup> y Victor J. Moreno<sup>3</sup>.

3 Depto. de Ciencias Marinas, Fac. de Cs. Exactas y Naturales, UNMdP. Argentina.

RESUMEN: Ejemplares hembras del camarón (*Artemesia longinaris*) fueron expuestos durante 30 días a diferentes concentraciones subletales del dispersante Corexit 9527 (0.1, 1, 10 y 100 ppm) en agua de mar. El efecto del crecimiento en peso al final de la experiencia fue significativo en las concentraciones más altas comparadas con el control. La mortalidad fue estadisticamente igual sólio entre el valor de 0.1 ppm y el tratamiento control. No hubo diferencias en la frecuencia de ecdisis observadas entre los tratamientos, pero gran parte de las muertes de los ejemplares en las concentraciones de 100, 10 y 1 ppm estuvieron relacionadas con la muda. En cuanto al comportamiento alimentario, el consumo del alimento ofrecido en forma diaria fue total a pesar que el tiempo de captura fue más lento en los ensayos con 100 y 10 ppm.

Palabras clave: Toxicidad, dispersante Corexit 9527, Artemesia longinaris, crecimiento, ecdisis, comportamiento alimentario.

SUMMARY: CHRONIC TOXICITY OF THE DISPERSANT COREXIT 9527 ON THE SHRIMP (Artemesia longinaris) (CRUSTACEA, DECAPODA:PENAEIDAE),— Females of the shrimp (Artemesia longinaris) were exposed for 30 days to different sublethal concentrations of the dispersant Corexit 9527 (0.1, 1, 10 y 100 ppm) in sea water. The effects on growth were significant at higher concentrations compared with the control group. The long-term mortality was statistically equal only between the 0.1 ppm and the control group. There were no significative differences in ecdisys frequencies between treatments but high number of deaths at the concentrations of 100, 10 and 1 ppm occurred in conjunction with the molt. As regard to the feeding behaviour, in all of assays, the consumption of food offered daily was 100%, and in spite of the time of capture was slowest at the concentrations of 100 and 10 ppm.

Key words: Toxicity, dispersant Corexit 9527, Artemesia longinaris, growth, ecdisys, food behaviour.

#### INTRODUCCION

Los dispersantes poseen agentes surfactantes y son de amplio uso en el control y eliminación del petróleo en la superficie del mar. Estos compuestos provocan la dispersión del mismo en microgotas las que son más fácilmente degradadas por los procesos químicos y biológicos naturales (Haynes, et al., 1984).

El Corexit 9527 es el agente de limpieza de derrames de petróleo, preferido corrientemente y de uso autorizado en las aguas costeras de California (Tjeerdema & Singer 1991).

La necesidad de estudiar los efectos del petróleo sobre los organismos es sumamente importante, pero tambien lo es el ensayo de la toxicidad de las sustancias utilizadas para la limpieza. Los dispersantes químicos de segunda generación, tienen en su fórmula una mezcla de ésteres surfactantes incorporados a un solvente (EPA,1993). La toxicidad de un dispersante está asociada con los surfactantes de cadena más corta (Wildish, 1974).

Entre los distintos estudios biológicos y químicos que intervienen en la determinación del impacto de un contaminante, los tests de toxicidad crónica o subletal constituyen una buena herramienta para evaluar el rango de tolerancia de un poluente por una o varias especies.

Diversos trabajos demuestran que los crustáceos se encuentran entre los organismos más sensibles al petróleo crudo y a los dispersantes. (Aunaas et al., 1991, Verriopoulos et al., 1987; Unsal, 1991, Singer, 1993, Pace & Clark, 1993).

Una de las especies de crustáceos peneidos más importantes en aguas del Atlántico Sudoccidental es el camarón (*Artemesia longinaris*) (Penaeidae). Su área de distribución se extiende desde los 23°S, Brasil, hasta los 43°S, Rawson, Argentina, (Boschi & Scelzo,1971). A excepción de trabajos de toxicidad aguda (Lucero *et al.*, 1996,1997), no se tiene conocimiento de otras experiencias en contaminación de hidrocarburos o sus derivados sobre esta especie.

El presente trabajo tiene como objetivo: Determinar los efectos subletales del dispersante Corexit 9527 sobre la especie seleccionada, en relación al comportamiento alimentario, muda y crecimiento somático y gonadal, entre distintos tratamientos en experiencias de larga duración,

<sup>1</sup> Becario CIC,

<sup>2</sup> Investigador Conicet.

#### MATERIALES Y METODOS

#### Animales testeados

Ejemplares del camarón fueron obtenidos mediante la pesca de arrastre comercial del área costera marplatense y transportados en recipientes con agua de mar y aireadores portátiles hasta el Laboratorio provisto por la Fundación Mar del Plata Aquarium, en Punta Mogotes, Mar del Plata, Argentina. Los animales permanecieron durante 5 días en aclimatación en tanques con agua de mar recirculante, alimentados con manto de mejillón, (Mytilus edulis platensis).

# Preparación de la solución del dispersante

Corexit 9527 en solución con agua de mar. Esta solución fue obtenida siguiendo el procedimiento descripto por Anderson et al., (1974). La solución acuosa del tóxico fue diluída subsecuentemente hasta obtener cuatro concentraciones de tipo nominal: 100, 10, 1 y 0.1 ppm. Estos valores se tomaron a partir de los estudios de toxicidad aguda (Lucero et al., 1997). Como control se empleó agua de mar filtrada sin dispersante. La solución fue preparada con cada renovación de agua.

La muestra de Corexit 9527 fue cedida por el Ing. Marini de ESSO S.A.P.A. La composición de la misma no fue provista. Según EPA (1993), la fórmula de los dispersantes –entre los que se incluye el Corexit 9527– es un sufactante incluido en un solvente. Los sufactantes comunmente usados son cadenas de ésteres surfactantes como: sulfosuccinato, monooleato, sorbitano y el polietilenglicol.

## Procedimiento experimental

La experiencia tuvo una duración de 30 dias. Cinco grupos (control y las cuatro concentraciones) de 15 ejemplares hembras adultas con pesos iniciales entre 2,63-2,93 gramos y una talla promedio de 90,1 mm. ± 4.6, fueron marcados individualmente mediante cortes en los urópodos y colocados en acuarios con capacidad para 50 litros con agua de mar. Todos los ejemplares se consideraron adultos, va que según Scelzo, (1996) el desove comienza entre 1.2-1.3 gramos de peso corporal. Las hembras fueron alimentadas diariamente con manto de mejillón. Los animales muertos y las mudas fueron removidos, identificados cuando fue posible y registrados diariamente. Se registró el tiempo de captura del alimento en cada tratamiento y la cantidad de piezas de mejillón consumido. La renovación total del agua fue realizada cada tres dias en todos los acuarios. Los animales que sobrevivieron hasta el final de la experiencia se pesaron individualmente y se fijaron en formol al 10%. Posteriormente se les extrajo a cada uno las gónadas las fueron pesadas y registrado el grado de maduración ovárica teniendo en cuenta características como textura, color y tamaño de los ovocitos (Christiansen & Scelzo, 1971). Se utilizó un fotoperíodo de 12 horas luz y 12 horas de oscuridad. La salinidad del agua fue de 34 partes por mil, la temperatura osciló entre 11 y 11.9 °C y la aireación fue continua presuponiendo un nivel de saturación. Se realizó una réplica por cada tratamiento.

### Análisis estadístico

La variación del peso corporal entre los distintos tratamientos fue testeada utilizando un análisis de Varianza (ANOVA). La mortalidad y número de mudas se probó utilizando el test de Chi cuadrado.

## RESULTADOS

#### Efectos sobre el crecimiento

Después de 30 dias de exposición, el ritmo de crecimiento diario fue significativamente diferente entre el tratamiento control y la concentración de 10 ppm (Fexp=9.66 para un  $\alpha$ =0.05). No hay resultados en 100 ppm porque la mortalidad fue total antes de finalizar la experiencia. No se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos de 1 y 0.1 ppm y el control (Fexp=1.59 para un  $\alpha$ =0.05), (Tabla 1):

#### Mortalidad

En relación al número de ejemplares muertos, se evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos control, de 100, 10 y 1 ppm (df=4, X2 =20.07). A partir del valor de concentración de 0,1 ppm la mortalidad fue comparable al control (Fig.1).

# Efecto sobre el ritmo de muda

No hubo diferencias significativas en el número de mudas en los distintos tratamientos, (df=3, X2 =4,38). Mientras que a la concentración de 100 y 10 ppm, todos los individuos que mudaron murieron posteriormente, en 1 ppm el 40% de ellos murió. En el control y en la concentración de 0.1 ppm, sobrevivieron todos los ejemplares mudados.

## Efecto sobre el comportamiento alimentario

En el control y en las concentraciones de 1 y 0,1 ppm, los individuos mostraron un comportamiento alimentario normal lo largo del estudio. Cuando se introdujo el alimento, al cabo de los primeros 30 segundos, todos los ejemplares habían capturado las piezas de mejillón. En los tratamientos de 100 y 10 ppm, el tiempo de captura del alimento estuvo por encima de los 120 segundos. El consumo de ración diaria fue del 100% en todos los tratamientos.

# Maduración gonadal

En todos los tratamientos se observaron ejemplares en distintos grados de maduración gonadal, aunque registros de ovarios desovados solo se encontraron en el grupo control (Tabla 2).

#### **DISCUSION Y CONCLUSIONES**

Ejemplares hembras del camarón (Artemesia longinaris) expuestos a soluciones acuosas del dispersante Corexit 9527, evidenciaron variaciones en el crecimiento al comparar los distintos tratamientos. A pesar del consumo diario del alimento ofrecido, la progresiva reducción del peso en las mayores concentraciones del tóxico podría estar dado por un aumento de la demanda energética. Experiencias con el antípodo (Gammarus oceanicus) expuesto a concentraciones subletales de fracciones solubles de los dispersantes Finasol

Tabla 1. Crecimiento en peso de hembras de (Artemesia longinaris) espuestas al dispersante Corexit 9527 en experimentos controlados, durante 30 días. (\*\*\*) Sin datos debido a la mortalidad total antes de la finalización de los ensayos.

Concentración (ppm)	Peso inicial (g) ±Sy	Peso final (g) ±Sy	Incremento mg/día 21	
Control	2,87 ± 0,41	3,50 ± 0,30		
0.1	3.63 ± 0.32	$4.54 \pm 0.27$	17	
1	$2.93 \pm 0.40$	3,42 ± 0,46	14	
10	$2.88 \pm 0.22$	$3.09 \pm 0.31$	4	
100	100 2,89 ± 0,30		•••	

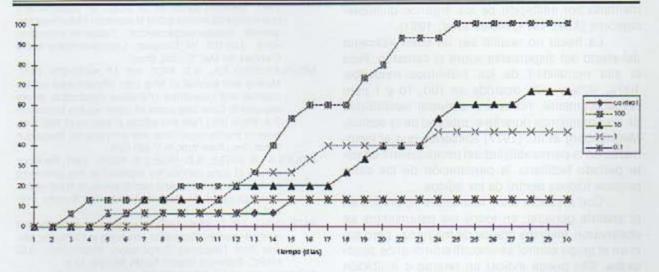


Fig. 1. Mortalidad acumulativa, en porcentaje, de hembras del camarón (Artemesia longinaris) expuestos a diferentes concentraciones de la solución acuosa del dispersante Corexit 9527 a lo largo de un mes.

Tabla 2. Porcentaje de maduración gonadal para hembras del camarón (Artemesia longinaris) expuestas al dispersante Corexit 9527 en experimentos controlados, durante 30 días. (\*\*) sin datos, por mortalidad.

	Control	0.1ppm	1ppm	10ppm	100ppm
Inmaduro		14,3	AHELIST HE	THE RESERVE OF THE PERSON NAMED IN	
Mad. temprana	14,3	28,5	28,5	14,2	THE ROSE
Mad. avanzada	57,1	14,2	71,4	57,1	THE PERSON
Maduro		42,8		28,6	**
Desovado	28,5	ALC:		2000	**

OSR-5 y OSR-12, condujeron a un incremento de la tasa respiratoria, lo que llevó a una disminución del crecimiento (Aunaas et al., op cit.)

La mortalidad fue significativa a concentraciones de 10 y 1 ppm. Estos valores son aproximadamente 150 veces más bajos que los registrados en los tests de toxicidad aguda para la misma
especie (Lucero et al., 1997). A partir de 0.1 ppm
los ejemplares muertos a esta concentración fueron comparables a los del tratamiento control. Estudios bioquímicos realizados en experiencias con
dispersantes en (Palaemon serratus), revelan un
deterioro de las enzimas en las membranas branquiales, lo que trae aparejado problemas de osmorregulación (Papineau y Le Gal, 1983). Esto podría
ser una de las causas principales en las altas mortalidades registradas.

El tiempo de captura del alimento varió entre los tratamientos. Los ejemplares expuestos a las concentraciones más altas evidenciaron un retardo en la toma de las piezas del mejillón. Esto podría estar relacionado con la presencia del tóxico en el agua y su interferencia con el sentido de percepción de los individuos ante el alimento ofrecido. Estudios llevados a cabo con petróleo y derivados sobre otros invertebrados y peces hacen referencia a alteraciones en el comportamiento alimentario por inhibición de los órganos quimioreceptores (Abel, 1974; Moles et al., 1981).

La muda no resultó ser un buen indicador del efecto del dispersante sobre el camarón. Pero la alta mortalidad de los individuos mudados, 100%, 90% y 40% ocurrida en 100, 10 y 1 ppm respectivamente, indica una especial sensibilidad de los organismos durante el proceso de la ecdisis. Mecklenberg et al., (1977) sostienen que el incremento en la permeabilidad del exoesqueleto en este período facilitaría la penetración de los compuestos tóxicos dentro de los tejidos.

Con respecto a los resultados obtenidos en el análisis gonadal; en todos los tratamientos se observaron distintos grados de madurez, pero solo en el grupo control se encontraron ovarios desovados. Ello puede indicar un retardo o inhibición del tóxico sobre la maduración ovárica de los ejemplares, comparada con el control sin dispersante.

Los resultados de este trabajo sugieren que los efectos subletales del dispersante sobre el camarón son considerables, pero que tambien indican que es necesaria la utilización de otros parámetros biológicos que permitan estimar en forma más precisa el valor de la concentración de la sustancia en estudio a partir de cual no existiria riesgo alguno para la población.

## BIBLIOGRAFIA

- ABEL P.D. 1974. Toxicity of sythetic detergents to fish and aquatic invertebrates. J. Fish Biol., 6: 279-283.
- ANDERSON W.J., J.M. NEFF, B.A. COX, H.E. TATEM y G.M. HIGHTOWER. 1974. Pollution and Physiology of Marine Organisms, F.J. Vernberg and W.B. Vernberg, Eds. (Acad. Press, London), 285-310.
- AUNAAS T., A. OLSEN y K.E. ZACHARIASSEN. 1991. The effects of oil dispersants on the amphipod Gammarus oceanicus from Artic waters. Polar Research 10 (2):619-630.
- BOSCHI, E.E. y M.A. SCELZO. 1971. Ultimos resultados de las investigaciones sobre los peneidos comerciales en la Argentina (embarcaciones, campañas camaroneras, y cultivos). CARPAS/5/D. Tec., 4: 17 p.
- CHRISTIANSEN, H.E. y M.A. SCELZO. 1971. Ciclo de maduración sexual y observaciones sobre la morfología del aparato genital del camarón Artemesia longinaris. (Resultados preliminares). CARPAS/5/Doc. Tecn.,17:1-18, Mar del Plata, Argentina.
- EPA, 1993, Use of chemical dispersants for marine oil spills. EPA.600/R-93/195.
- HAYNES D.L., D.G. KELLY, J.H. SMITH y E.L. FERNANDEZ, 1984. (United States,) 1-2 p. Environmental Protection Agency, Research and Development, EPA-600/S2-84-
- LUCERO N.M., M. SCELZO, V. MORENO y A. GIANGIOBBE. 1996. Ensayos de toxicidad aguda de un dispersante de petróleo sobre dos crustáceos marinos de interés comercial. III Simposio sobre Oceanografía. IOUSP. San Pablo. Brasil.
- LUCERO N.M., M. SCELZO, A. GIANGIOBBE y V. MORENO.
  1997. Toxicidad aguda de un crudo, un dispersante y
  una mezcla de ambos sobre el camarón (*Artemesia lon-*ginaris) (crustacea:penaeldae). Resumen extendido,
  vol II 108-109. VII Congreso Latinoamericano sobre
  Ciencias del Mar, Santos, Brasil.
- MECKLENBERG T.A., S.D. RICE and J.F. KARINEN. 1977.

  Molting and survival of king crab (*Paralithodes camts-chatica*) and coonstripe (*Pandalus hypsinotus*) larvae exposed to Cook Inlet crude oil water soluble fraction. In D.A. Wolfe (de.) Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine organisms and ecosystems. Pergamon Press, Inc., New York, N.Y. 221-228.
- MOLES A., S. BATES, S.D. RICE y S. KORN. 1981. Reduced growth of coho salmon fry exposed to two petroleum components, toluene and naphthalene, in fresh water.

  Transactions of the American Fisheries Society, 110: 430-436.
- PACE C.B. y J.R. CLARK. 1993. Evaluation of a toxicity test method used for dispersant screening in California. Marine Spill Response Corporation, Washington, D.C. MSRC. Technical Report Series 93-028, 34 p.
- PAPINEAU C. y Y. LE GAI, 1983. Effet subletal des dispersants et des emulsions petrolieres sur l'ATPase des branchies de (Palaemon serratus). Rev. Int. Océanogr. Méd. Tomes LXX-LXXI, 39-47 p.
- SCELZO M.A. 1996. Annual cycle of the Ovarian and Hepatopancreatic Indices of the female shrimp Artemesia longinaris (Crustacea, Decapoda, Penaeldae) from Mar del Plata, Argentina. 6th Colloquium Crustacea Decapoda Mediterranea, pg. 80.
- SINGER M.M. 1993. Comparative toxicity of two oil dispersants to the early life stages of two marine species. Environmental Toxicology and Chemistry, 12:1855-1863.
- TJEERDEMA R.S. y M.M. SINGER. 1991. Closed flow-through aquatic toxicity testing and microscopic organisms: not necessarily icompatible. Mar. Pollut. Bull.,22: 59-61.
- UNSAL M. 1991. Comparative toxicity of crude oil, dispersant

and oil-dispersant mixture to prawn, (Palaemon elegans). Toxicological and Environmental Chemistry, Vol 31-32: 451-459.

VERRIOPOULOS G., M. MORAITOU-APOSTOLOPOULOU y

E. MILLIOU. 1987. Combined toxicity of four toxicants

(Cu, Cr, oil, oil dispersant) to (Artemia salina) . Bull. Environ. Contam. Toxicol. 38: 483-490.

WILDISH D.J. 1974. Lethal response by atlantic salmon parr to some polyoxytethylated cationic and noniionic surfactants. Water Research, 8:443-447.